N° d'enregistrement
au C.N.R.S.
A.O. 6.248

ARTICLE PRINCIPAL

RECOUVRANT EN PARTIE

LA THÈSE DE DOCTORAT ES SCIENCES PHYSIQUES

PRÉSENTÉE

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

PAR

Françoise LECLERCQ

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ES SCIENCES

SYNTHESES ET REACTIONS DE DESOXYHEXOSYL- ET CETOHEXOSYL-PURINES

Soutenue le 19 Novembre 1971, devant la Commission d'Examen

Melle E. LE BRETON	**Président**
MM. S. DAVID	**Examinateurs**
L. MESTER	**Examinateurs**
H. KAGAN	**Membre invité**

N° d'enregistrement
au C.N.R.S.
A.O. 6.248

ARTICLE PRINCIPAL

RECOUVRANT EN PARTIE

LA THÈSE DE DOCTORAT ES SCIENCES PHYSIQUES

PRÉSENTÉE

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

PAR

Françoise LECLERCQ

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ES SCIENCES

SYNTHESES ET REACTIONS DE DESOXYHEXOSYL- ET CETOHEXOSYL-PURINES

Soutenue le 19 Novembre 1971, devant la Commission d'Examen

M^elle^ E. LE BRETON	**Président**
MM. S. DAVID L. MESTER	**Examinateurs**
H. KAGAN	**Membre invité**

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Extrait du *Bulletin de la Société Chimique de France*, 1969 n° 11, 3927.

N° 668. — Dérivés et analogues nucléosidiques des désoxy-2 D-arabino et désoxy-3 D-xylo-hexopyranoses, obtenus par condensation thermique catalysée de désoxy (-2 et -3) hexoses acétylés avec des bases pyriques substituées,

par Kostas ANTONAKIS et M^me^ Françoise LECLERCQ.

(Institut de recherches scientifiques sur le Cancer du CNRS, 94-*Villejuif.)*

(*Manuscrit reçu le* 30.4.69.)

L'étude des réactions de fusion de désoxyhexoses acétylés avec successivement, la chloro-6-purine, la trichloro-2,6,8 purine et la diméthyl-1,3 xanthine est exposée. La synthèse de dérivés nucléosidiques des désoxy-2 D-arabino et désoxy-3 D-xylo-hexopyranoses est décrite et l'influence du groupe substituant en 2 des hexoses, lors de ces réactions de condensation, est étudiée.

Les nucléosides de structure « modifiée » possèdent des propriétés biologiques dont l'intérêt n'a cessé d'être souligné ces dernières années. Notamment, ceux comprenant dans leur structure des désoxysucres sont fréquemment pourvus de propriétés antibiotiques et antitumorales (1 à 6).

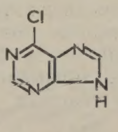
Les analogues de ces nucléosides peuvent également avoir des propriétés présentant un grand intérêt. C'est ainsi que MURRAY et ses collaborateurs (7) ont montré récemment, que les (désoxy-5'-β-D-xylofuranosyl)-9-purines diversement substituées en 6 se révèlent inhibiteurs de l'adénosine déaminase.

Nous avons entrepris la synthèse directe de dérivés nucléosidiques par condensation thermique catalysée de désoxy-hexopyranoses acétylés avec des bases puriques chlorées ou de structure plus complexe, comme la théophylline (N-substitutions).

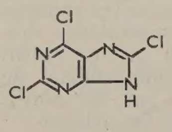
Au cours de cette étude nous avons été amené à faire des comparaisons avec les résultats obtenus à nos précédents travaux concernant la synthèse directe des aryl désoxyhexosides, par la même méthode (O-substitutions) (8 à 10).

Si nous avons constaté quelques analogies entre les réactions de certaines bases puriques et celles de phénols aminés ou chlorés vis-à-vis des mêmes désoxyhexoses acétylés lors de ces condensations thermiques, il ne reste pas moins que des différences fondamentales existent entre les deux types de réactions. C'est ainsi que le tétra-O-acétyl-1,3,4,6 désoxy-2-β-D-arabino-hexopyranose par fusion catalytique avec différents phénols substitués conduit uniquement à l'isomère α des aryl désoxy-2-arabino-hexopyranosides correspondants (10) (11), tandis que ce même désoxy-2 hexose acétylé en fusion avec des bases puriques substituées (12) conduit dans les mêmes conditions expérimentales aux deux formes anomériques du nucléoside.

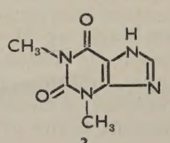
En ce qui concerne les différents catalyseurs essayés, nous avons également constaté que la spécificité de certains d'entre eux est plus prononcée pour la synthèse des aryl désoxyglycosides — notamment avec les acides sulfamiques et sulfoniques qui conduisent en général à l'isomère β — tandis que dans le cas des déxoxynucléosides le mélange auquel on aboutit contient souvent les deux formes isomères. Nous avons obtenu des rendements supérieurs avec l'iode, qui en outre, peut être éliminé à l'aide d'une colonne de silicagel, tandis que l'acide *p*-toluène sulfonique, qui est généralement utilisé pour les fusions catalytiques, favorise les polymérisations et conduit à des mélanges dont il n'est pas aisé de séparer les divers constituants.



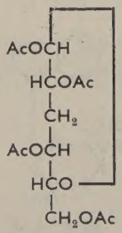
1



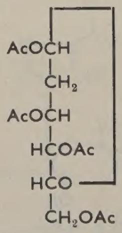
2



3



4



5

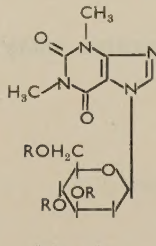
Nous avons préparé le tétra-O-acétyl-1,3,4,6 désoxy-2-β-D-arabino-hexopyranose **5** par acétylation du désoxy-2-arabino-hexose à l'aide d'anhydride acétique en milieu pyridinique; les deux isomères α et β ont été séparés par cristallisation fractionnée. La fusion de la forme β de ce tétraacétyl désoxyhexose **5** avec la théophylline **3** à 150° et en présence d'iode comme catalyseur, conduit à des mélanges contenant en majorité l'isomère β du nucléoside

formé. La séparation des divers constituants du mélange s'effectue à l'aide d'une colonne de silicagel, le solvant éluant étant l'acétate d'éthyle. L'hexose acétylé qui n'a pas réagi, passe le premier et est ainsi éliminé, quant à l'iode, il reste fixé au sommet de la colonne; ce composé avait déjà été obtenu par d'autres méthodes (15).

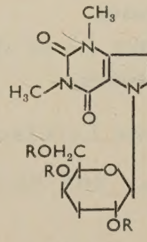
Il est important de remarquer que le mélange auquel on aboutit, lorsqu'on part de l'α-tétraacétyl désoxy-2 glucose, est de composition analogue à celui qu'on obtient en partant de l'isomère β. Il apparaît donc, d'après ces résultats, que l'orientation anomérique du désoxy nucléoside ne dépend pas exclusivement de la forme isomère du composé du départ et, en outre que la formation du nucléoside ne se produit pas avec rétention de configuration.

Aussi l'absence de groupe acétyle en C2 n'a pas les mêmes effets pour les N-substitutions que pour les O-substitutions, où nous venons de signaler que seul l'isomère α de l'aryl désoxy-2 glucoside se forme.

La synthèse du tétra-O-acétyl-1,2,4,6 désoxy-3-β-D-galactose **4** a été réalisée à partir du di-O-isopropylidène-1,2;5,6 glucose par une méthode que nous avons décrite (13).



6 R = Ac
7 R = H

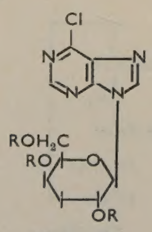


8 R = Ac
9 R = H

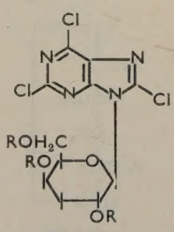
La fusion de cet hexose acétylé avec les différentes bases puriques a été effectuée dans les mêmes conditions que pour le triacétyl désoxy-2 glucose. Avec l'iode comme catalyseur, nous avons obtenu des mélanges contenant en majeure partie l'isomère β des désoxynucléosides que nous avons isolés à l'état cristallin après purification.

On a ainsi pu mettre en évidence que, dans le cas de désoxynucléosides obtenus par fusion catalytique et, contrairement aux nucléosides obtenus par condensation d'un acétobromosucre avec le sel lourd d'une base purique, suivant la méthode de Fischer et Helferich (14), le désoxyhexose au sein du nucléoside formé n'a pas toujours la configuration *trans* en C1 — C2.

Enfin nous devons souligner que, en dehors du rôle important que jouent, pour ces condensations thermiques, la fusibilité et la thermostabilité des composés mis en présence, la nature du groupe substituant de la base purique, notamment l'effet polaire de ces substituants attracteurs d'électrons sur le centre de réaction, est également d'une grande importance.



10 R = Ac
11 R = H



12 R = Ac
13 R = H

Ainsi, on remarque que la réactivité des aminopurines est très faible tandis que celle des bases puriques chlorées est importante et permet à la réaction de se faire en absence de catalyseur. Cette réactivité décroît dans le sens: trichloro-2,6,8 purine, chloro-6 purine, théophylline. En outre, on constate que les bases puriques chlorées conduisent à des N_9 nucléosides, dont l'absorption dans l'ultraviolet est caractéristique, et qu'avec la théophylline la substitution se fait en N_7, comme de travaux antérieurs (5) le laissaient prévoir.

La configuration anomérique des désoxynucléosides obtenus, a été déterminée par l'étude du pouvoir rotatoire et des spectres infrarouges qui donnent des bandes caractéristiques pour certains des isomères. Également, les spectres RMN précisent la position *cis* ou *trans* des protons H1′ et H2′ de ces nucléosides. Ainsi, d'après la constante de couplage $J_{1',2'}$, on peut déduire l'angle formé par les protons H1′ et H2′.

Dans le cas des nucléosides **8** et **10**, la constante de couplage étant 9 et 10, ces deux protons sont en *trans*; la configuration anomérique β de ces désoxynucléosides est ainsi confirmée.

La désacétylation des nucléosides porteurs de groupes acétylés a été effectuée par l'ammoniac à froid. Le passage des chloropurines aux aminopurines se fait par chauffage en tube scellé et à 110°, d'une solution méthanolique saturée d'ammoniac, du nucléoside « modifié ». Il est à remarquer que, l'élimination du chlore est préférentielle et seule la position 6 de la base donne lieu à cet échange. Ainsi, dans le cas des trichloro-2,6,8 purines on obtient des nucléosides dont la base est la dichloro-2,8 amino-6 purine, tandis que avec la chloro-6 purine on a obtenu des désoxyglycosyl adénines (amino-6 purines) dans d'excellentes conditions.

Nous exprimons nos remerciements à M. L. Mester, Directeur de Recherches, pour ses conseils et pour l'intérêt qu'il a bien voulu porter à ce travail.

Partie expérimentale.

Les pouvoirs rotatoires ont été mesurés avec un polarimètre « Quick » (Roussel et Jouan). Les spectres ultraviolets ont été mesurés à l'aide d'un spectrophotomètre Jobin-Yvon type MVI. Les points de fusion ont été déterminés sous microscope sur platine « Reichert »; ils ne sont pas corrigés. La technique de la chromatographie utilisée est celle de la chromatographie ascendente sur papier Whatman nº 1. Le solvant utilisé est, sauf indication contraire, le *n*-butanol saturé d'eau. Le R'_f est le rapport entre le R_f du nucléoside et le R_f de la base purique.

Les spectres RMN ont été mesurés avec un appareil Varian A-60 dans $CDCl_3$.

Tétra-O-acétyl-1,3,4,6 désoxy-2-(α + β)-D-arabino hexopyranose **5**

On a déjà décrit l'acétylation du désoxy-2 D-arabinohexose (9). Le mélange de deux isomères obtenus est séparé par cristallisation fractionnée dans de l'éthanol.

L'isomère β est obtenu en premier, F = 91-93°, $[\alpha]_D^{20} = -9$ (MeOH).

Les cristallisations suivantes donnent le α-tétraacétyl désoxy-2 D-arabino-hexopyranose, F = 106°, $[\alpha]_D^{20} = +117$ (MeOH).

(Tri-O-acétyl-3′,4′,6′ désoxy-2′-β-D-arabino-hexopyranosyl)-7-théophylline **6**.

On place dans un ballon conique de 50 ml, 360 mg (2 millimoles) de théophylline **3** (diméthyl-1,3-xanthine) et 600 mg (1,8 millimoles) de tétraacétyl désoxy-2 glucose **5**. On ajoute quelques cristaux d'iode et le mélange est chauffé dans un bain d'huile à 150° et sous pression réduite. Lorsque la condensation d'acide acétique, qui apparaît au début de la réaction, ne se forme plus sur les parois du ballon récepteur — après 10 mn de chauffage — on enlève le ballon du bain d'huile et le laisse sous vide jusqu'à refroidissement complet.

Le mélange est dissout dans du chloroforme et filtré. On chasse alors le chloroforme sous vide et reprend l'huile restant dans 15 ml d'acétate d'éthyle. La solution est filtrée à nouveau pour enlever l'excès de théophylline et ensuite concentrée jusqu'à 5 ml.

Cette solution est enfin appliquée sur une colonne de silicagel préparée dans l'acétate d'éthyle (silicagel : Merck 0,05-0,2 mm, colonne : ∅ 2 cm, H 30 cm). La colonne est éluée à l'aide d'acétate

d'éthyle et des fractions de 3 ml sont collectées. La séparation est suivie au fur et à mesure par l'étude des pouvoirs rotatoires des différentes fractions collectées.

L'iode reste au sommet de la colonne et le sucre qui n'a pas réagi est élué en tête. Enfin le nucléoside est recueilli entre les fractions 30 et 40.

Ces fractions, contenant le désoxynucléoside sont concentrées sous vide et l'huile obtenue est cristallisée dans du méthanol. $[\alpha]_D^{20} = -24$ ($c = 0,1$ MeOH), F = 186-188°.

$R_f = 0,92$, $R'_f = 1,38$.

Dans l'ultraviolet on décèle un pic à 274 mμ, $\varepsilon_{274} = 9\,230$.

Le spectre infrarouge, montre des bandes caractéristiques de la liaison C — N à 1 030 et 1 080 cm^{-1}.

Spectre RMN: pour H 1, quadruplet; $J_{1',2'}$ 11 cps, δ 6,19 ppm.

Analyse $C_{19}O_9H_{24}N_4$: Calc. % :	C 50,50	H 5,30
Tr. :	50,65	5,24.

(Désoxy-2'-β-D-arabino-hexopyranosyl)-7-théophylline **7**.

300 mg de (tri-O-acétyl-2',4',6' désoxy-2'-β-D-glucopyranosyl)-7-théophylline **6** sont dissous dans 100 ml de méthanol anhydre et placés dans un ballon à deux cols dont l'un est muni d'un barboteur pour les gaz et l'autre est fermé par une garde remplie de gel de silice.

Le ballon est plongé dans un bain de glace et la solution méthanolique est saturée par un courant d'ammoniac. On laisse le ballon dans le mélange réfrigérant pendant 72 h en prenant soin que la solution ammoniacale reste toujours saturée. Au bout de ce temps, l'ammoniac est chassé, la solution concentrée et l'huile restante cristallisée dans un mélange méthanol-eau. Rdt = 200 mg.

$[\alpha]_D^{20} = -34$, ($c = 0,32$, H_2O), F = 245-250°.

$R_f = 0,45$, $R'_f = 0,67$.

Dans l'ultraviolet on trouve un pic à 274 mμ, $\varepsilon_{274} = 8\,760$.

Analyse: Calc. % :	C 47,85	H 5,52	N 17,17
Tr. :	48,34	5,93	16,73.

Tétra-O-acétyl-1,2,4,6 désoxy-3-β-D-xylo-hexopyranose **5**.

La préparation de ce tétraacétyl désoxygalactose a déjà été décrite (13) par l'un de nous. L'huile obtenue après l'acétylation est cristallisée dans l'éthanol F = 106,5°.

Trichloro-2,6,8 (tri-O-acétyl-2',4',6' désoxy-3'-β-D-xylo-hexopyranosyl)-9-purine **12**.

447 mg de trichloro-2,6,8 purine (2 millimoles) sont fondus ensemble avec 600 mg de tétraacétyl désoxy-3 galactose dans les conditions décrites précédemment.

La fusion s'effectue à une température voisine de 150°, et la purification, par le procédé que nous avons appliqué aux autres nucléosides.

L'huile finalement obtenue a cristallisé dans du méthanol F = 175-178°, $[\alpha]_D^{20} = -9$, ($c = 0,3$ MeOH).

Dans l'ultraviolet on décèle un maximum d'absorption à 250 mμ : $\varepsilon_{250} = 7\,460$.

Analyse $C_{17}O_7H_{17}N_4Cl_3$:

Calc. % :	C 41,20	H 3,4	N 11,3
Tr. :	40,91	3,5	11,4.

(Tri-O-acétyl-2',4',6' désoxy-3'-β-D-xylo-hexopyranosyl)-7-théophylline **8**.

La fusion catalytique est appliquée à un mélange composé de 360 mg de théophylline et 600 mg de tétraacétyl désoxy-3 galactose, en présence de quelques cristaux d'iode. On a ensuite appliqué le processus décrit plus haut pour la synthèse du nucléoside du désoxy-2 D-glucose.

Les cristaux sont obtenus dans du méthanol et les caractéristiques sont les suivantes : F = 149-150°.

$[\alpha]_D^{20} = -13$, ($c = 0,2$ MeOH).

$R_f = 0,94$, $R'_f = 1,39$.

A l'infrarouge on décèle des bandes d'absorption caractéristiques à 1 030 et 1 080 cm^{-1}.

Spectre RMN: pour H 1', doublet; $J_{1',2'}$ 9,5 cps, δ 6,15 ppm.

Dans l'ultraviolet on décèle un pic à 274 mμ, $\varepsilon_{274} = 9\,800$.

Analyse $C_{19}O_9H_{24}N_4$: Calc. % :	C 50,50	H 5,3
Tr. :	50,76	5,5.

Chloro-6 (tri-O-acétyl-2',4',6' désoxy-3'-xylo-hexopyranosyl)-9-purine **10**.

La fusion est effectuée sur 294 mg de chloro-6-purine (2 millimoles) et 600 mg (1,8 millimoles) de tétraacétyl désoxy-3 galactose. Les conditions expérimentales sont les mêmes que celles appliquées à la préparation du (triacétyl désoxy-2' glucosyl)-7-théophylline **6** mais la température de fusion est plus basse, 130 à 140°.

La purification s'effectue également sur colonne de silicagel, le solvant étant l'acétate d'éthyle. Ici, le nucléoside est recueilli entre les fractions 20 et 30, la cristallisation de l'huile obtenue après évaporation du solvant, est effectuée dans du méthanol.

$[\alpha]_D^{20} = -25,4$ ($c = 0,3$ MeOH), F = 141°.

$R_f = 0,95$, $R'_f = 1,21$.

Dans l'ultraviolet, on décèle un pic à 265 mμ, $\varepsilon_{265} = 8\,570$.

En infrarouge on décèle des bandes d'absorption caractéristiques à 1 050 et 1 080 cm^{-1}.

Spectre RMN : pour H 1', doublet $J_{1',2'}$ 9,5 cps, 5,9 ppm.

Analyse $C_{17}O_7H_{19}N_4Cl$:

Calc. % :	C 47,78	H 4,51	N 13,13
Tr. :	47,80	4,82	12,24.

(Désoxy-3'-β-D-xylo-hexopyranosyl)-7-théophylline **9**.

400 mg de (tri-O-acétyl-2',4',6' désoxy-3'-D-galactopyranosyl)-7-théophylline **8** sont désacétylés par l'ammoniac suivant la méthode décrite précédemment.

Le désoxy-3'-β-D-galactopyranosyl)-7-théophylline **9** est obtenu après cristallisation dans le méthanol. Rdt = 270 mg.

$[\alpha]_D^{20} = -15$ ($c = 0,42$, H_2O), F = 227-228°.

Le spectre ultraviolet montre une absorption à 274 mμ, $\varepsilon_{274} = 7\,820$.

Analyse $C_{13}H_{18}O_6N_4$:

Calc. % :	C 47,85	H 5,52	N 17,17
Tr. :	48,16	5,93	17,52.

(Désoxy-3'-β-D-xylo-hexopyranosyl)-adénine.

320 mg de chloro-6 (tri-O-acétyl-3',4',6' désoxy-3'-β-D-galactopyranosyl)-9-purine **10** sont dissous dans 20 ml de méthanol anhydre. Cette solution est placée dans un tube et on ajoute 30 ml de méthanol anhydre préalablement saturé par l'ammoniac à 0 °C. Après avoir scellé le tube on laisse dans un four à 110 °C pendant 8 h.

Après refroidissement, l'ammoniac et le méthanol sont chassés sous vide et l'huile restant, dissoute dans 3 ml d'eau, est chromatographiée sur une colonne de Sephadex, G 10, utilisée en chromatographie ascendante afin d'obtenir une meilleure séparation. L'élution se fait avec de l'eau et le débit de la colonne est d'environ 40 ml à l'heure. On analyse les différentes fractions collectées par mesure de l'absorption ultraviolette à 260 mμ et par chromatographie sur papier. Le nucléoside de départ est élué en premier, les produits incomplètement désacétylés sont élués ensuite et l'amino-6 (désoxy-3'-β-D-galactopyranosyl)-9-purine est recueillie dans les dernières fractions.

$[\alpha]_D^{20} = -25,4$ ($c = 0,18$, eau).

Dans l'ultraviolet on décèle un maximum d'absorption à 260 mμ, $\varepsilon_{260} = 8\,770$.

$R_f = 0,38$.

R_{AD}(ButOH/eau — satur.) 0,60 = (R_f p.r. au R_f de l'adénosine).

Analyse $C_{11}H_{14}O_4N_5$ 2 H_2O :

Calc. % :	C 41,70	H 5,72	N 22,18
Tr. :	41,46	6,38	21,48.

Bibliographie.

(1) J. J. Brink et G. A. Le Page, *Cancer Res.*, 1964, **24**, 312.

(2) A. P. Martinez, W. W. Lee et L. Goodman, *J. org. Chem.*, 1966, **31**, 3263.

(3) W. W. Zorbach et S. Saeki, *J. org. Chem.*, 1964, **29**, 2018.

(4) J. D. Dutcher, *Adv. Carboh. Chem.*, 1963, **18**, 259.

(5) Y. Ishido et T. Sato, *Bull. chem. Soc. Jap.*, 1961, **34**, n° 9, 1347; — Y. Ishido, A. Hosono, S. Isome, A. Maruyama et T. Sato, *Bull. Chem. Soc. Jap.*, 1964, **37**, n° 9, 1389.

(6) D. H. Murray et J. Prokop, *J. Pharmaceut. Sci.*, 1965, **54**, 1637.
(7) R. H. Shah, H. J. Schaeffer et D. H. Murray, *J. Pharmaceut. Sci.*, 1965, **54**, 15.
(8) K. Antonakis, *C.R. Acad. Sci.*, 1966, **262**, 601; *Bull. Soc. chim.*, 1966, p. 3780.
(9) K. Antonakis et F. Leclercq, *C.R. Acad. Sci.*, 1967, **265**, 524.
(10) K. Antonakis, *Bull. Soc. chim.*, 1969, p. 122.
(11) F. Shafizadeh et M. Stacey, *J. chem. Soc.*, 1957, p. 4612.
(12) K. Antonakis et F. Leclercq, *C.R. Acad. Sci.*, 1968, **267** C, 1343.
(13) K. Antonakis, *Bull. Soc. chim.*, 1965, p. 2112.
(14) E. Fischer et B. Helferich, *Ber.*, 1914, **47**, 210.
(15) P. A. Levene et F. Cortese, *J. Biol. Chem.*, 1931, **92** 53; — J. Davoll et B. Lythgoe, *J. Chem. Soc.*, 1949, p. 2526.

Imprimé avec le périodique *Bulletin de la Société Chimique de France*. Autorisation S. 7. Dépôt légal : N° 3917 4e trimestre 1969
Masson et Cie éditeurs, Paris. *Imprimé en France.*